

Combination microscope with arrangement for holding a sample

Patent number: DE19902234
Publication date: 2000-02-24
Inventor: HOLLRICHER OLAF (DE); IBACH WOLFRAM (DE)
Applicant: WITEC WISSENSCHAFTLICHE INSTR (DE)
Classification:
- international: **G02B21/00; G02B21/26; G12B21/06; G02B21/00;
G02B21/24; G12B21/00;** (IPC1-7): G02B21/00
- european: G02B21/00M4A1; G02B21/26; G12B21/06; Y01N8/00;
Y01N10/00
Application number: DE19991002234 19990121
Priority number(s): DE19991002234 19990121; DE19982014974U
19980821

[Report a data error here](#)**Abstract of DE19902234**

The microscope has at least one objective for confocal microscopy. The microscope further includes at least one probe for near field optical imaging of a sample. This probe can be fastened into a microscope lens holder instead of a usual objective lens. The probe preferably includes a housing (3) containing a near field tip (5). The tip (5) emits light through an optical aperture which is much smaller than the optical wavelength used for the imaging.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY



①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 199 02 234 A 1**

⑤1 Int. Cl. 7:
G 02 B 21/00

②1 Aktenzeichen: 199 02 234.8
②2 Anmeldetag: 21. 1. 1999
④3 Offenlegungstag: 24. 2. 2000

⑥6 Innere Priorität:
298 14 974. 5 21. 08. 1998

⑦1 Anmelder:
WITec Wissenschaftliche Instrumente und
Technologie GmbH, 89081 Ulm, DE

⑦4 Vertreter:
Dr. Weitzel & Partner, 89522 Heidenheim

⑦2 Erfinder:
Hollricher, Olaf, Dr., 89233 Neu-Ulm, DE; Ibach,
Wolfram, 89075 Ulm, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Kombinationsmikroskop

⑤7 Die Erfindung betrifft ein Mikroskop mit
Mitteln zum Halten einer Probe,
mindestens einem Objektiv für die konfokale Mikro-
skopie.

Die Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, daß
das Mikroskop mindestens eine Sonde zur nahfeldopti-
schen Abbildung der Probe umfaßt.

DE 199 02 234 A 1

DE 199 02 234 A 1

Die Erfindung betrifft ein Mikroskop mit Mitteln zum Halten einer Probe, und mindestens einem Objektiv für die konfokale Mikroskopie.

Mikroskope, insbesondere optische Mikroskope, bieten vielfältigste Möglichkeiten der Untersuchung, beispielsweise von Proben. Neben der einfachen vergrößerten Abbildung von Objekten sind als weitere Möglichkeiten der speziellen Kontrastierung, beispielsweise Transmission, Reflexion, Dunkelfeldabbildung, Polarisationsuntersuchungen, Fluoreszenzmarkierung, Raman-spektroskopie etc. bekannt geworden.

Bei der Fluoreszenzmarkierung werden gezielt die chemische Eigenschaft von Farbstoffen ausgenutzt, um bestimmte Probenbereiche zu markieren.

Bei polarisationsaufgelöster Mikroskopie werden die doppelbrechenden Eigenschaften von Proben und bei der Raman-spektroskopie die speziellen Eigenschaften chemischer Bindungen untersucht.

Untersuchungen bzw. Mikroskopie mit optischen Verfahren finden bevorzugt im Wellenlängenbereich von 400 nm bis 700 nm statt. Mit Hilfe von Glasoptiken ist auf einfache Art und Weise der Wellenlängenbereich von ca. 200 nm bis 2000 nm erreichbar.

Aufgrund der Wellennatur des Lichts ist das erreichbare Auflösungsvermögen der klassischen Optik begrenzt. Nach dem Rayleigh-Kriterium lassen sich mit einer beugungsbegrenzten Optik zwei Punkte noch trennen, wenn ihr Abstand $\Delta x \geq 0,61 \lambda / N.A.$ beträgt, wobei N. A. die sog. numerische Apertur des Objektivs darstellt und λ die verwendete Wellenlänge.

In der Praxis erreicht man bei Ölimmersionsoptiken eine numerische Apertur von $N.A. \leq 1,4$, so daß die mit klassischen Mikroskopen erreichbare maximale Auflösung – d. h. die Fähigkeit, zwei Punkte zu trennen – etwa bei der halben Wellenlänge des eingesetzten Lichtes liegt.

Mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie ist es möglich, eine verbesserte Auflösung zu erreichen, wobei eine punktförmige Quelle, vorzugsweise ein Laser, auf einen Punkt der Probe abgebildet wird. Anschließend wird dieser Bildpunkt vorzugsweise mit derselben Optik auf eine Lochblende, ein sog. Pinhole, vor einem Detektor fokussiert. Die Größe der Lochblende muß dabei kleiner als die beugungsbegrenzte Abbildung des Beleuchtungsbildes sein. Das Bild wird nun dadurch erzeugt, daß ein Punkt der Beleuchtungsquelle über die Probe gerastert wird, die Probe also Punkt für Punkt abgetastet wird. Mit dieser Art der Abbildung erreicht man eine erhebliche Steigerung des Bildkontrastes, da zur Abbildung nur die Fokusebene des Objektivs beiträgt. Außerdem kann die Auflösung aufgrund der Faltung des Beugungspunktes mit der Apertur der Lochblende um etwa den Faktor $\sqrt{2}$ auf $\lambda/3$ reduziert werden. Zusätzlich kann man 3-dimensionale Bilder der Probenstruktur mit einer axialen Auflösung von etwa einer Wellenlänge erhalten. Problem der konfokalen Mikroskopie ist, daß die Auflösung kleinster Strukturen, insbesondere im nm-Bereich, nicht bzw. nur eingeschränkt möglich ist.

Aufgabe der Erfindung ist es somit, ein Mikroskop mit einem konfokalen Objektiv anzugeben, das auch noch im nm-Bereich ein ausreichendes Auflösungsvermögen aufweist.

Gemäß der Erfindung wird dies dadurch erreicht, daß ein Mikroskop mit konfokalem Objektiv Einrichtungen zur Nahfeldmikroskopie, insbesondere eine Sonde zur nahfeldoptischen Abbildung einer Probe, umfaßt.

Bei der Nahfeldmikroskopie wird zur Abbildung des Objekts im Gegensatz zur klassischen Optik keine Linse benutzt, sondern eine optische Apertur, deren Durchmesser

viel kleiner als die verwendete Lichtwellenlänge ist. Diese optische Apertur wird in einem geringen Abstand, der vorzugsweise kleiner als der Aperturdurchmesser ist, über die Probe gerastert. Die erreichbare Auflösung wird dann nicht mehr von der Lichtwellenlänge, sondern von der Größe der Apertur bestimmt.

Betreffend die optische Nahfeldmikroskopie wird beispielhaft auf die nachfolgenden Schriften verwiesen:

EP-A-0 112 401

EP-A-0 112 402

EP-A-0 487 233

EP-A-0 583 112

US-A-5 677 525

Die hierin beschriebenen nahfeldoptischen Mikroskope sind sehr aufwendige Aufbauten, die alleine für die spezielle Art der nahfeldoptischen Untersuchungen konstruiert wurden. Insbesondere konnten Proben mit nahfeldoptischen Methoden und konventionellen Methoden nur getrennt voneinander untersucht werden. Eine Abbildung ein- und derselben Probenstelle mit den unterschiedlichen optischen Verfahren war bislang nicht bzw. nur schwer möglich.

Prinzipiell sind bei der Nahfeldmikroskopie die gleichen optischen Abbildungsverfahren wie in der klassischen Optik möglich, beispielsweise Transmissions-, Reflexions-, Polarisations-, Fluoreszenz-Messungen oder die Raman-Spektroskopie etc. Allerdings können wesentlich höhere Auflösungen erreicht werden.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist vorgesehen, daß das erfindungsgemäße Kombinationsmikroskop mindestens eine Mikroskopobjektivhalterung aufweist.

Besonders vorteilhaft ist es, wenn das erfindungsgemäße Mikroskop eine Sonde zur nahfeldoptischen Abbildung aufweist, die derart ausgestaltet ist, daß sie anstelle eines herkömmlichen Objektivs in einer Mikroskopobjektivhalterung befestigt werden kann.

Hierfür ist es von besonderem Vorteil, wenn die Nahfeldsonde ein Sondengehäuse umfaßt und die Nahfeldsonde in diesem vorzugsweise vertikal angeordnet ist.

Alternativ hierzu kann eine sogenannte Cantilversonde vorgesehen sein, die eine optische Spitze an einem Cantilever sowie eine Einheit zum Bewegen des Cantilevers umfaßt.

In einer bevorzugten Ausgestaltung weist das Sondengehäuse zur Aufnahme der Nahfeldspitze im wesentlichen die Abmessungen eines Mikroskopobjektivs auf sowie an seiner Außenseite ein Gewinde, so daß das Sondengehäuse samt der darin angeordneten Nahfeldspitze in das für die Halterung herkömmlicher Mikroskopobjektive vorgesehene Gewinde eingeschraubt werden kann.

Mit Vorteil ist vorgesehen, daß die nahfeldoptische Sonde mit Mitteln zum Justieren der Nahfeldspitze ausgestattet ist. Bevorzugt können hierfür beispielsweise Mikrometerschrauben eingesetzt werden.

In Bezug auf die Baugröße der nahfeldoptischen Sonde sowie deren Zuverlässigkeit ist es von besonderem Vorteil, wenn die Nahfeldspitze im Meßbetrieb feststehend im Sondengehäuse angeordnet ist.

Durch eine derartige Anordnung können die bislang zur Abbildung der Probe notwendigen Verschiebemittel für die Nahfeldspitze entfallen.

Da die Bildaufnahme im Bereich der konfokalen Mikroskopie analog zu dem der optischen Nahfeldmikroskopie erhalten wird, nämlich dadurch, daß die zu untersuchende Probe Punkt für Punkt abgetastet und die hieraus erhaltenen Signale zu einem Bild zusammengesetzt werden, ergänzen sich konfokale Mikroskopie und optische Nahfeldmikroskopie. Mittels der konfokalen Mikroskopie kann die zu unter-

suchende Probenoberfläche genau definiert werden. Reicht die Auflösung der konfokalen Mikroskopie zur Untersuchung des interessierenden Probenbereiches nicht aus, so kann mit dem erfindungsgemäßen Mikroskop durch einfaches Einschrauben bzw. Verdrehen des Mikroskoprevolvers auf die nahfeldoptische Abbildung umgeschaltet werden. Mit Hilfe der nahfeldoptischen Sonde erfolgt nunmehr mit höherer Auflösung das Abrastern desselben Bereiches bzw. eines Ausschnittes des mit der konfokalen Mikroskopie untersuchten Bereiches.

Hierzu ist es besonders vorteilhaft, wenn die Nahfeldspitze paraxial zu den weiteren Objektiven der klassischen Optik angeordnet ist.

In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung der Erfindung ist vorgesehen, daß zum Abrastern der Probe nicht die optische Sonde bzw. der Laserstrahl in der konfokalen Mikroskopie verfahren wird – wie bislang üblich – und die Probe dabei ortsfest bleibt, sondern die Probe gegenüber den ortsfest stehenden Sonden bzw. dem ortsfest stehenden Laserstrahl beispielsweise auf einem Scantisch in den drei Raum-Richtungen X, Y, Z verfahren wird.

Mit Hilfe eines derartigen Scantisches können auf einfache Art und Weise klassische Mikroskope zu Laser-Scanning Mikroskopen, konfokalen Mikroskopen bzw. Nahfeldmikroskopen umgerüstet bzw. ergänzt werden.

Besonders vorteilhaft ist es, wenn für die unterschiedlichen Arten der Mikroskopie, beispielsweise der Nahfeldmikroskopie und der konfokalen Mikroskopie, ein und derselbe Scantisch verwendet wird.

Die Detektion des konfokalen bzw. nahfeldoptischen Signals erfolgt mit Hilfe von Detektoren entweder in Transmission oder in Reflexion.

Besonders bevorzugt ist es, wenn der Scantisch einen Scanbereich in XY-Richtung von wenigstens 1 µm, vorzugsweise 100 µm, beträgt und die Ortsauflösung in diesem Bereich wenigstens 0,1 µm, bevorzugt 1 nm, ist.

Beim Scanbereich in Z-Richtung, der die Aufnahme einer Topographie der Oberfläche ermöglicht, werden erfindungsgemäß wenigstens 0,1 µm mit einer Ortsauflösung von 0,01 µm erreicht, bevorzugt eine Auflösung von 0,1 nm bei 10 µm Scanbereich.

In der besonderen Ausgestaltung der Erfindung ist vorgesehen, daß die Nahfeldsonde mittels Mikrometerschrauben paraxial zum konfokalen Strahlengang justiert werden kann. Damit ist es möglich, nacheinander den gleichen Probenbereich mit konfokaler Mikroskopie und mit Nahfeldoptik abzubilden.

Die Erfindung soll nachfolgend anhand der Zeichnungen beispielhaft beschrieben werden.

Es zeigen:

Fig. 1 eine Draufsicht auf eine Sondereinheit wie sie im erfindungsgemäßen Mikroskop Verwendung findet.

Fig. 2 eine Längsansicht der Sondereinheit, wobei als Ebene die in **Fig. 1** gezeichnete Ebene A-A betrachtet wird.

Fig. 3A eine detaillierte Ansicht der erfindungsgemäßen Halterung der ersten Ausführungsform einer optischen Nahfeldsonde.

Fig. 3B eine detaillierte Ansicht einer erfindungsgemäßen Sondereinheit mit Cantileverspitze.

Fig. 4 den Gesamtaufbau eines optischen Kombinationsmikroskopes gemäß der Erfindung.

Fig. 1 zeigt in der Draufsicht eine optische Nahfeldsonde 1, wie sie in dem erfindungsgemäßen Kombinationsmikroskop eingesetzt werden kann.

Die nachfolgend in den **Fig. 1** bis **3** beschriebene Nahfeldsonde ist vorteilhaft für das erfindungsgemäße Kombinationsmikroskop aus herkömmlichem optischem, insbesondere konfokalem Mikroskop und Nahfeldmikroskop,

aber keineswegs zwingend. Es sind auch Ausführungsformen mit anderen Spitzen, wie im Stand der Technik beispielsweise der EP-A-0 112 401, EP-A-0 112 402, EP-A-0 487 233, EP-A-0 583 112, US-A-5,677,525, beschrieben, möglich.

Die in **Fig. 1** dargestellte optische Nahfeldsonde umfaßt ein Sondengehäuse 3, das in der dargestellten Ausführungsform entsprechend einem Mikroskopobjektiv eine kreisrunde Form aufweist. In der Mitte des kreisrunden Sondengehäuses 3 ist die Nahfeldsonde 5 angeordnet, die in der Halterung 7 gehalten wird. Als Nahfeldsonde finden heute bevorzugt Monomoden-Glasfasern Verwendung, die mit einer Metallschicht bedampft werden. Mit derartigen Nahfeldspitzen können Auflösungen von mehr als 20 nm erreicht werden. Diesbezüglich wird beispielsweise auf E. Betzig, J. K. Trautman, T. D. Harris, J. S. Weiner, und R. L. Kostelak, Science 257: 1468–1470, 1991, sowie die EP 0 487 233 A2 verwiesen, deren Offenbarungsgehalt in die vorliegende Anmeldung vollumfänglich mitaufgenommen wird.

Auch andere Arten von Nahfeldsonden als die beispielhaft erwähnte Nahfeldspitze sind denkbar. Nur beispielsweise wird auf aperturlose Sonden wie in F. Zenhausern, M. P. O'Boyle und H. K. Wickramasinghe, Appl. Phys. Lett. 65: 1623–1625, 1994 verwiesen oder die Verwendung von Oberflächenplasmonen in Tetraederspitzen wie in U. C. Fischer, J. Koglin, H. Fuchs Journal of Microscopy, 176: 231–237, 1994 oder 231–237, 1994 oder beispielsweise Cantileverspitzen wie in M. Radmacher, P. E. Hillner und P. K. Hansma, Rev. Sci. Instrum. 65(8): 2737–2738, 1994 oder in C. Hihlce, W. Scholz, S. Werner, S. Münster, E. Oesterschulze und R. Kassing, Appl. Phys. Lett. 68(25): 3531–3533, 1996 beschrieben. Der Offenbarungsgehalt sämtlicher dieser Schriften wird in die vorliegende Anmeldung vollumfänglich mitaufgenommen.

Die Halterung 7 für die nahfeldoptische Sonde 5 ist bei der erfindungsgemäßen Sonde vibrationsarm auf einem Kohlefaserstab 9 gelagert, der sich über den gesamten Durchmesser des Sondengehäuses 3 hinweg erstreckt.

Das im wesentlichen zylindrische Sondengehäuse weist des weiteren Grobeinstellmittel 11, 13 zum Einstellen der Nahfeldspitze 5 innerhalb der XY-Ebene des Objektives auf. Die Lichteinkopplung erfolgt über eine Monomodenfaser, die durch Öffnung 15 in das Mikroskopobjektiv eingeführt werden kann.

Bei Cantileverspitzen kann dies durch Verwendung des konfokalen Strahlengangs und Fokussierung des Lichts von der Rückseite auf den Balken mit Nahfeldapertur geschehen.

Wie die theoretische Betrachtung der Nahfeldoptik zeigt, wird die Auflösung in der Nahfeldoptik durch die evaneszenten Felder bestimmt. Da diese Felder auf einer Strecke von wenigen Nanometern abfallen, ist es notwendig, die Nahfeldsonde in diesen Bereich zu bringen und den Abstand zwischen Probe und Sonde während der Messung konstant zu halten. Hierfür wurden unterschiedliche Verfahren zur Abstandsdetektion der Nahfeldsonde entwickelt. Bei der Verwendung von verjüngten und bedampften Monomoden-Glasfasern als Nahfeldspitzen wie in dem in **Fig. 1** dargestellten Ausführungsbeispiel werden bevorzugt Scherkraftdetektionsverfahren eingesetzt, wie beispielsweise bei E. Betzig, P. L. Finn, J. S. Weiner, Appl. Phys. Lett. 60: 2484–2486, 1992 beschrieben. Neben optischen Methoden zur Scherkraftdetektion, wie in der zuvor zitierten Literaturstelle beschrieben, haben sich hierzu insbesondere elektrische Detektionsverfahren durchgesetzt, die sich durch einen sehr kompakten Aufbau auszeichnen und ein schnelles und einfaches Austauschen der Nahfeldspitzen ermögli-

chen. Betreffend die Scherkraftdetektion, die in der Nahfeldsonde gemäß der Erfindung bevorzugt zum Einsatz gelangt, wird auf R. Brunner, A. Bietsch, O. Hollricher, O. Marti, Rev. Sci. Instrum.: 68: 1769-1772, 1997, verwiesen. Der Offenbarungsgehalt dieser Publikation wird vollumfänglich in die vorliegende Anmeldung miteingeschlossen.

Für die piezoelektrische Scherkraftdetektion zur Abstandsregelung weist die optische Nahfeldsonde in der in Fig. 1 dargestellten Ausführungsform ein Anregungspiezoelement 20 sowie ein gegenüberliegendes Detektionspiezoelement 22 auf. Als Halteelement 7 für die Nahfeldspitze 5 findet bevorzugt ein Messingblock Verwendung. Die Piezoelemente 20, 22 werden am Messingblock bevorzugt mit Zyanacrylat fixiert. Die für die Detektionsmessung notwendigen Zuleitungen werden über die Bohrung 24 in das Gehäuse 3 hineingeführt.

In Fig. 2 ist eine Längsansicht der erfindungsgemäßen Nahfeldsonde dargestellt, wobei die Sicht auf die Ebene A-A fällt.

Deutlich zu erkennen ist das zylinderförmige Sondengehäuse 3 mit dem darin eingelassenen Gewinde 30 zum Einschrauben in die Fassung einer klassischen Objektivhalterung, beispielsweise in den Revolver eines klassischen Mikroskopes. Die im Metallblock 7 gehaltene Nahfeldspitze 5 wird dadurch geschützt, daß im Bereich der Nahfeldspitze das zylinderförmige Sondengehäuse 3 in Form einer kreisförmigen Pyramide 32 ausgebildet ist. In der Mitte der ansteigenden kreisförmigen Pyramide 32 ist eine Vertiefung 34 eingelassen, die die Nahfeldspitze 5 samt Metallhalterung 7 aufnimmt.

Dadurch, daß die Nahfeldspitze 5 mit der Halterung 7 in die Vertiefung 34 eingelassen ist, wird ein gewisser Schutz gegenüber mechanischer Zerstörung gewährleistet.

In Fig. 3A ist nochmals in Detail die Nahfeldspitze in einer ersten Ausführungsform samt ihrer Halterung gezeigt. Gleiche Gegenstände, wie zuvor beschrieben, sind mit denselben Bezugsziffern belegt. Deutlich zu erkennen ist die Nahfeldspitze 5, die vorliegend als Monomoden-Glasfaser ausgestaltet ist und in einer Kanüle 40, vorzugsweise einer Metallkanüle, geführt wird. Die Metallkanüle 40 wird mit Schrauben 42, 44 im Metallblock 7 befestigt. An den Stirnseiten des Metallblocks ist das anregende Piezoelement 20 und das Detektionspiezoelement 22 angeordnet, mit deren Hilfe eine Abstandsregelung der Spitze 5 durch Scherkraftdetektion ermöglicht wird. Zu jedem der Piezoelemente 20, 22 führen Signalleitungen 46, 48.

In Fig. 3B ist eine alternative Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Sonde dargestellt, die eine Cantileverspitze umfaßt. Die Cantileverspitze 500 umfaßt eine optische Nahfeldspitze 502 sowie einen Balken 504, an dem die optische Nahfeldspitze befestigt ist. Die Spitze ist direkt unterhalb des Sondengehäuses 3 angeordnet. Das Einkoppeln von Licht in die Cantileverspitze erfolgt mittels eines Laserstrahles 506 und einer Optik 508. Die Positionserfassung der Spitze erfolgt beispielsweise mit Hilfe einer Lichtzeigereinrichtung, die vorliegend nicht dargestellt ist.

Fig. 4 zeigt den prinzipiellen Aufbau eines optischen Kombinationsmikroskopes mit mindestens einer Einrichtung für die konfokale Mikroskopie und einer optischen Nahfeldsonde 1. Die Nahfeldsonde 1 ist in einem gewöhnlichen Objektivhalter eines Objektivrevolvers 100 eines klassischen optischen Mikroskopes eingeschraubt. Die Probe 104 kann zunächst mit Hilfe eines klassischen Objektives 106 oder Einrichtungen zur konfokalen Mikroskopie 108 abgebildet werden. Eine Grobposition auf der Probe kann mit Hilfe der Grobpositioniereinrichtung 107 eingestellt werden. Wird eine bessere Auflösung verlangt, so wird der

erfindungsgemäße nahfeldoptische Detektor 1 in die dargestellte Beobachungsposition durch Verdrehen des Revolvers verbracht. Betreffend die konfokale Mikroskopie wird beispielsweise auf die US 5,677,525 verwiesen, deren Offenbarungsgehalt vollumfänglich in die vorliegende Anmeldung mitaufgenommen wird.

Lichtquellen für die nahfeldoptische Untersuchung sind Laser 110, 112, die monochromatisches Licht einer bestimmten Wellenlänge emittieren, beispielsweise bei einem He-Ne-Laser rotes Licht mit einer Wellenlänge von 633 nm.

Dieses Licht wird über Lichtwellenleiter 114 und einen Faserkoppler zur Sondenspitze 5 geführt und dort emittiert.

Bei Verwendung von Cantileverspitzen wird der Anregungslaser mit Hilfe einer Linse in den konfokalen Strahlengang eingekoppelt und von der Rückseite auf den Balken mit der Nahfeldapertur fokussiert.

Das die Probe 104 transmittierende Licht wird vom Objektiv 120 gesammelt, über Filter 122, Spiegel 124 zur Fotodiode 126 bei Stellung des Klappspiegels 128 in der gestrichelten Position, geführt.

Durch Umklappen des Klappspiegels kann der Strahlengang anstelle auf den Detektor 126 auf die CCD-Kamera 130 gelenkt werden. Die CCD-Kamera 130 kann zur Justage der Optik, zur Charakterisierung der Spitzen und zur Auswahl eines geeigneten Probenausschnittes verwendet werden.

Das Abrasten bzw. Abscannen der Probe geschieht mit Hilfe eines Piezotisches, der Piezoelemente 132, 134 zum Verschieben der Proben in X- und Y-Richtung und Z-Richtung aufweist. Der Rasterbereich des Piezotisches beträgt in der X-Y-Ebene in vorliegender Ausführungsform $100 \times 100 \mu\text{m}$. Um Piezohysteresis-Effekte auszugleichen, wird der Tisch kapazitiv geregelt. Die laterale Auflösung beträgt 0,5 Nanometer. Am Mikroskop 120 ist zur Justage der Optik ein eigener Piezotisch 139 angeordnet. Das Scherkraftdetektionssignal der Nahfeldspitze wird über Leitung 140, das Signal der für die Verschiebung in X-Y-Z-Richtung über Leitung 144 und das von der Detektionsdiode 126 aufgenommene Lichtsignal über Leitung 146 an die Meßeinheit 150 übermittelt, die einen Funktionsgenerator, einen Lock-in-Verstärker, einen Scherkraft-Regler, eine Piezosteuerung sowie eine AD/DA-Karte aufweisen kann, übermittelt. Die Ansteuerung der einzelnen Meßgeräte 150 geschieht mit Hilfe eines Mikrocomputers 152, in dem die abgescanten Daten zu einem Bild zusammengesetzt werden. Die Scangeschwindigkeit zur Aufnahme des Bildes beträgt wenigstens 0,1 Zeile/s; mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung sind Geschwindigkeiten von 10 Zeilen/s zu erreichen.

Neben der dargestellten Ausführungsform der Erfindung, bei der durch die Probe hindurchtretendes, also transmittiertes Licht aufgenommen wird, ist es auch möglich, das Beobachtungsobjektiv in die Nahfeldsonde zu integrieren und von der Probe reflektiertes Licht aufzunehmen.

Dies ist insbesondere bei nicht-durchlässigen, d. h. nicht transparenten Proben vorteilhaft.

Um die Justage des konfokalen Strahlengangs bei Messungen in Transmission vorzunehmen, ist vorgesehen, die Detektionsoptik 120 mit einem Verschiebetisch 139 in allen drei Raumrichtungen zu verfahren und den Detektor 126 mit Pinhole 127 ortsfest zu belassen. Wird die CCD-Kamera 130 parfokal mit dem Detektor 126 angeordnet, so kann eine Grobjustage leicht vorgenommen werden, indem der Anregungsstrahlengang auf einen definierten Punkt auf der CCD-Kamera 130 justiert wird, so daß der Strahlengang nach Umklappen des Klappspiegels 128 auf das Pinhole trifft. Anschließend kann eine Feinjustage auf das Intensitätsmaximum vorgenommen werden. Dazu ist es vorteilhaft, wenn der XYZ-Tisch 139 zur Justage der Optik 120 eine Absolut-

positionsanzeige mit einer Auflösung von wenigstens 1 µm aufweist.

Anschließend wird die Probe mittels der Laser-Scanning- oder der konfokalen Mikroskopie untersucht. Zur Erhöhung der Auflösung wird dann die nahfeldoptische Sonde eingebracht. Damit der zu untersuchende Bereich auch mit der Nahfeldoptik abgebildet werden kann, enthält der Sondenkopf zwei Mikrometerschrauben 11 und 13, so daß die Nahfeldsonde paraxial zum konfokalen Strahlengang justiert werden kann. Dies kann mit der CCD-Kamera 130 kontrolliert werden.

In der Ausführungsform mit Cantileverspitze lassen sich mittels empfindlicher Kraftaufnahmeeinrichtung, beispielsweise mit Lichtzeigerprinzip wie in G. Meyer und N. M. Amer, Appl. Phys. Lett. 53 : 1045 (1988) oder in O. Marti, J. Colchero und J. Mlynek, Nanotechnology 1: 141, 1990 beschreiben, deren Offenbarungsgehalt in die vorliegende Anmeldung vollumfänglich mitaufgenommen wird, auch Topographie- und Reibungsmessungen durchführen. Die dargestellte Erfindung wäre dann sowohl für die optische Nahfeldmikroskopie sowie für die AFM-Mikroskopie geeignet. Bezüglich der AFM-Mikroskopie wird beispielsweise die EP 0 545 538 A1 oder die EP 0 652 414 verwiesen, deren Offenbarungsgehalt in die vorliegende Anmeldung vollumfänglich mitaufgenommen wird.

Der Erfindung wird somit erstmals ein Kombinationsgerät für die klassische Mikroskopie, insbesondere die konfokale Mikroskopie mit einem Nahfeldmikroskop, angegeben, das sich dadurch auszeichnet, daß es eine kompakte Bauweise aufweist und eine leichte Untersuchbarkeit ein- und desselben Probenbereiches ermöglicht.

Patentansprüche

1. Mikroskop mit
 - 1.1 Mitteln zum Halten einer Probe;
 - 1.2 mindestens einem Objektiv für die konfokale Mikroskopie,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 - 1.3 das Mikroskop mindestens eine Sonde zur nahfeldoptischen Abbildung der Probe umfaßt.
2. Mikroskop gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Mikroskop mindestens eine Mikroskopobjektivhalterung aufweist.
3. Mikroskop gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die nahfeldoptische Sonde derart ausgestaltet ist, daß sie anstelle eines herkömmlichen Objektives in einer Mikroskopobjektivhalterung befestigt werden kann.
4. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1–3, dadurch gekennzeichnet, daß die Sonde zur nahfeldoptischen Abbildung umfaßt:
 - 4.1 ein Sondengehäuse (3);
 - 4.2 eine Nahfeldspitze (5) zur Emission von Licht durch eine optische Apertur, die viel kleiner als die zur Abbildung verwendete Lichtwellenlänge ist; wobei
 - 4.3 die Nahfeldspitze (5) in dem Sondengehäuse (3) angeordnet ist.
5. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1–3, dadurch gekennzeichnet, daß die Sonde zur nahfeldoptischen Abbildung umfaßt:
 - 5.1 ein Sondengehäuse (3);
 - 5.2 eine Nahfeldspitze, die als Cantileverspitze mit einem Balken ausgebildet ist;
 - 5.3 die Cantileverspitze ist in bzw. an dem Sondengehäuse angeordnet.
6. Mikroskop gemäß Anspruch 4 oder 5, dadurch ge-

kennzeichnet, daß das Sondengehäuse im wesentlichen die Abmessungen eines Mikroskopobjektives aufweist.

7. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 4 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Sondengehäuse Befestigungsmittel zur Befestigung desselben im Einschraubgewinde (30) eines Mikroskopobjektives aufweist.

8. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 4 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Sonde Mittel zum Justieren der Nahfeldspitze im Sondengehäuse aufweist.

9. Mikroskop gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Nahfeldspitze im Meßbetrieb örtlich feststehend im Sondengehäuse angeordnet ist.

10. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß das Mikroskop des weiteren Mittel zur Laser-Scanning-Mikroskopie umfaßt.

11. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Mikroskop noch weitere Objektive für konventionelle optische Mikroskopie umfaßt und die nahfeldoptische Sonde derart angeordnet ist, daß deren Nahfeldspitze paraxial zu den weiteren Objektiven und/oder dem Objektiv für die konfokale Mikroskopie ist.

12. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Mikroskop des weiteren Mittel zur Kraftmikroskopie umfaßt.

13. Mikroskop gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zur Kraftmikroskopie Mittel zur Messung in verschiedenen Meßmodi zur Bestimmung mechanischer Eigenschaften auf Nanometer-Skala umfaßt.

14. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zum Halten der Probe einen Scantisch umfassen, mit dem eine darauf angeordnete Probe in allen drei Raumrichtungen relativ zur Nahfeldspitze verschoben werden kann.

15. Optisches Mikroskop gemäß Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Scantisch einen Scanbereich in XY-Richtung von wenigstens 1 µm und eine Ortsauflösung von wenigstens 0,1 µm aufweist.

16. Mikroskop gemäß Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, daß der Scantisch einen Scanbereich in Z-Richtung von wenigstens 0,1 µm und eine Ortsauflösung von wenigstens 0,01 µm aufweist.

17. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Scangeschwindigkeit wenigstens 0,1 Zeile/s beträgt.

18. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Scantisch mindestens sowohl für die Nahfeldmikroskopie wie die konfokale Mikroskopie verwendet wird.

19. Mikroskop gemäß Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, daß der Scantisch des weiteren für die Kraftmikroskopie verwendet wird.

20. Mikroskop gemäß einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß das Mikroskop des weiteren ein Detektionsmikroskop zur Detektion des durch die Probe transmittierten Lichtes umfaßt.

Hierzu 4 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

FIG. 1

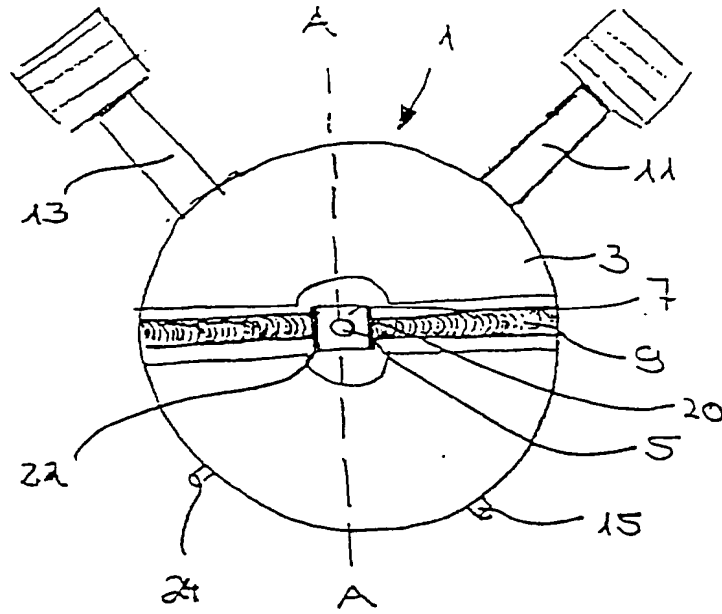


FIG. 2

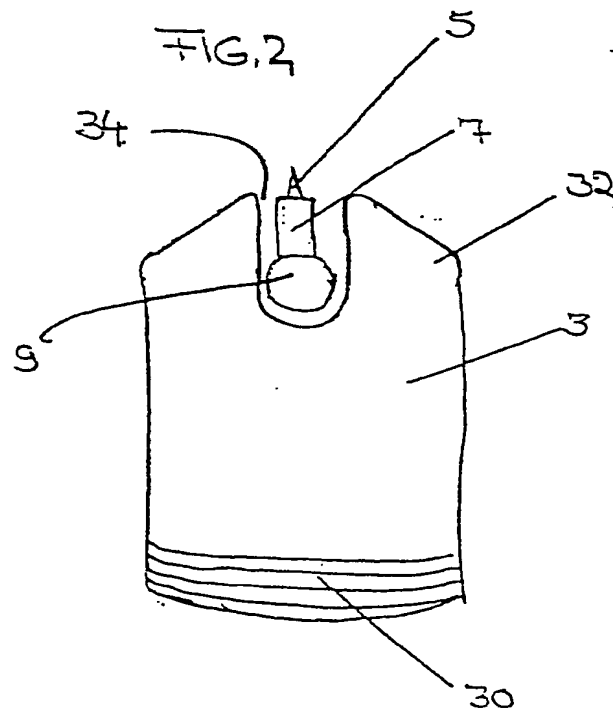


FIG. 3A

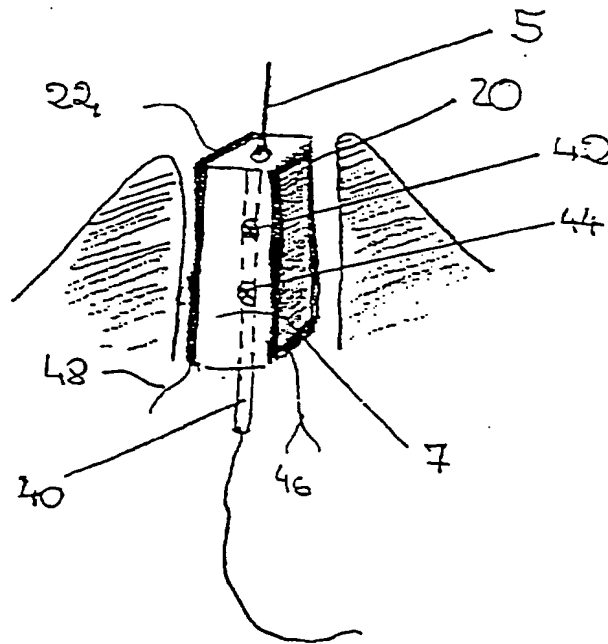


FIG. 3B

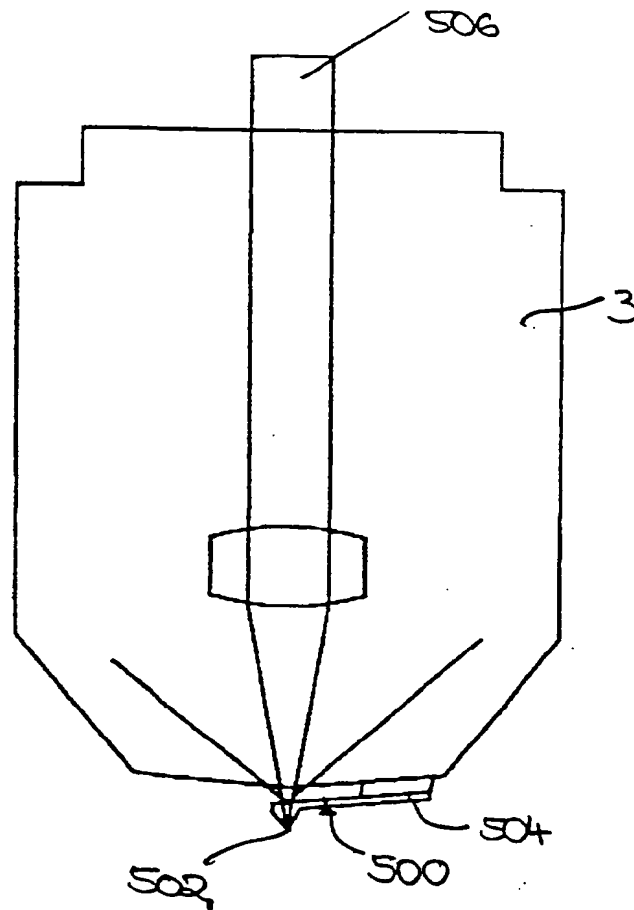
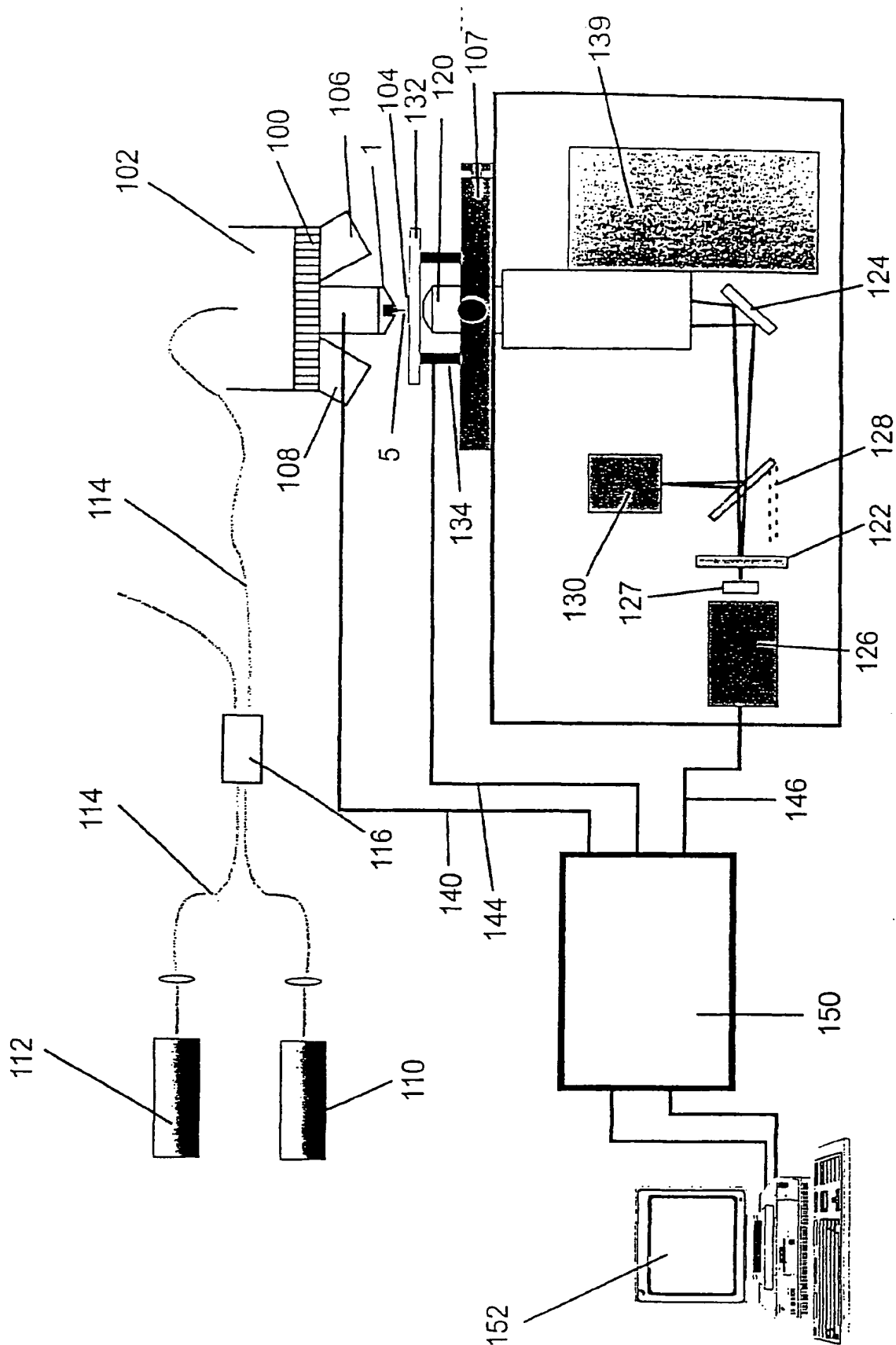


Fig. 4



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.